

Neutral Invertase Activity Assay Kit

中性转化酶(NI)/细胞质转化酶活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1800B	中性转化酶(NI)/细胞质转化酶活性检测试剂盒 微板法	48T

产品简介:

蔗糖酶即蔗糖转化酶 (Invertase, E.C.3.2.1.26) 在蔗糖代谢中催化蔗糖分解为果糖和葡萄糖, 是高等植物蔗糖代谢关键酶之一。根据最适 PH 值, 蔗糖转化酶分为酸性转化酶 (AI) 和中性转化酶 (NI) 两种类型, 许多报道均将中性转化酶同碱性转化酶看作一种转化酶。NI 的最适 PH 值在 7.0 左右, 主要存在于细胞质中, 负责分解细胞质中蔗糖为果糖和葡萄糖。

NI 催化蔗糖分解产生还原糖, 进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应, 生成棕红色氨基化合物, 经光谱扫描在 540nm 有特征光吸收, 在一定范围内 540nm 光吸收值与还原糖生成量成正比。通过光吸收增加速率来计算 NI 活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×1 瓶	4°C保存	用前加入 7.5mL 试剂一充分溶解备用; 用不完的试剂 4°C保存;
试剂三	10mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

一、样本准备

- 称样本 0.1g (水分充足的样本可取 0.5g) 于研钵中, 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆后转入离心管中;
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】若样本含糖量高, 可引起 A 对照值较大如超过 1.6, 即检测背景值过高会影响检测, 可在样本制备过程中增加除糖步骤: 取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆, 4°C放置 10min; 12000rpm, 4°C离心 5min; 弃上清, 留沉淀, 向沉淀中加入经预冷的 80%乙醇混匀, 4°C放置 5min; 12000rpm, 4°C离心 5min; 弃上清, 留沉淀。再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液涡旋混匀, 4°C放置 10min; 12000rpm, 4°C离心 10min; 留上清, 弃沉淀。上清液置冰上待测。

二、样品测定

- 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm。
- 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	40	40
试剂一	100	200
试剂二	100	-

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

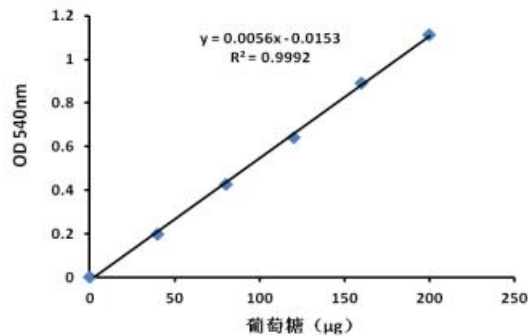


混匀，37°C准确水浴 20min 后，95°C水浴 10min（用封口膜缠紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀（以保证浓度不变）。		
试剂三	100	100
混匀，95°C水浴 10min（用封口膜缠紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，吸取 200μL 转移至 96 孔板中，540nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A$ 测定 - A 对照（每个测定管需设一个对照管）。		

- 【注】：1.若吸光值大于 1.5，可以用蒸馏水稀释样本后测定，计算公式中乘以相应稀释倍数 D。
2.若 ΔA 值在零附近徘徊，可增加样本加样体积 V1（如增至 80μL，则试剂一相应减少），或延长 37°C 水浴时间（如增至 40min 或更长），则相应的 V1 和 T 需代入公式重新计算。

三、结果计算

1. 标准曲线方程为 $y = 0.0056x - 0.0153$ ；x 为标准品浓度（μg），y 为 ΔA 。



2. 按蛋白浓度计算：

单位定义：37°C每毫克蛋白每分钟产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$NI \text{ 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0153) \div 0.0056] \div (V1 \times Cpr) \div T = 223.2 \times (\Delta A + 0.0153) \div Cpr$$

3. 按鲜重计算：

单位定义：37°C每克组织每分钟产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$NI \text{ 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0153) \div 0.0056] \div (W \times V1 \div V) \div T = 223.2 \times (\Delta A + 0.0153) \div W$$

V---加入提取液体积，1mL

V1---加入反应体系中样本体积，0.04mL

T---反应时间，20min

D---稀释倍数，未稀释即为 1

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

W---样本质量，g

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（5mg/mL）：向标准品离心管里面加入 1mL 蒸馏水（母液需在两天内用且-20°C保存）。
2. 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0，1，2，3，4，5. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 按照：40μL 标准品+200μL 试剂一+100μL 试剂三，依次加样操作，95°C水浴 10min，冷却后，取 200μL 至 96 孔板中，540nm 下测定，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

